

血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化的作用研究进展

舒刘芳^{1,2} 综述, 姜希娟¹, 杨琳¹, 魏丽萍², 齐新² 审校

(1.天津中医药大学, 天津市 300193; 2.天津市人民医院心内三科, 天津市 300121)

[关键词] 动脉粥样硬化; 血管平滑肌细胞; 表型转换; 细胞增殖; 细胞凋亡

[摘要] 在动脉粥样硬化的进程中, 血管中膜平滑肌细胞发生表型转换、迁移、增殖, 进入血管内膜, 参与动脉粥样硬化斑块纤维帽及新生血管的生成。本文就当前关于血管平滑肌细胞表型转换对动脉粥样硬化作用的研究进展作一综述。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

Phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis

SHU Liu-Fang^{1,2}, JIANG Xi-Juan¹, YANG Lin¹, WEI Li-Ping², QI Xin²

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. The Third Department of Cardiology, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Vascular smooth muscle cells; Phenotypic transformation; Cell proliferation; Cell apoptosis

[ABSTRACT] In the process of atherosclerosis, media vascular smooth muscle cell phenotype transform, migrate and proliferate, enter the vascular intima, and participate in the formation of fibrous caps and neovascularization of atherosclerotic plaques. In this review, the current research progress on the role of vascular smooth muscle cell phenotype transformation to atherosclerosis is reviewed.

以动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)为基本病理变化的心脑血管疾病, 如急性心肌梗死、急性脑卒中的发病率和死亡率日益增加。世界卫生组织(WHO)预测, 到2020年心血管疾病可能成为世界第一大死因。因此, 对动脉粥样硬化的研究是当今心脑血管疾病研究领域的重点。以往对动脉粥样硬化的研究大多集中在血管内膜和外膜上, 近年来, 越来越多的研究者强调血管中膜平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)在动脉粥样硬化发生发展中的重要作用。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)表型转换是其参与动脉粥样硬化发生发展的关键改变, 故本文对VSMC表型转换与动脉粥样硬化研究的最新进展进行综述。

1 动脉粥样硬化斑块内 SMC 来源

SMC 和/或 SMC 样细胞是动脉粥样硬化斑块内泡沫细胞的主要来源和纤维帽的重要组成部分。一般认为, 斑块 SMC(样)细胞源于动脉中膜的VSMC, 但越来越多的研究发现, 动脉粥样硬化斑块局部的 SMC(样)细胞并非全部来源于动脉中膜, 亦可来自循环和外膜的祖/干细胞、转分化的内皮细胞、外膜成纤维细胞。Sata 等^[1]发现, 在成形术后血管再狭窄、移植性血管病动脉粥样硬化模型上, 参与动脉重塑的 SMC 大部分来源于骨髓细胞, 而非管壁自身固有的 SMC, 而且纯化的造血干细胞在体外、体内均可被诱导分化为 SMC。研究者将大鼠骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchyma stem cells, BMSC)和血管外膜成纤维细胞共培养, 发现可诱导 BMSC 向 SMC 样细胞分化的趋势^[2-3]。尽管有

[收稿日期] 2017-07-31

[修回日期] 2017-10-11

[基金项目] 天津中医药大学中西医结合学院研究生创新基金项目(ZXYCX201610); 天津市卫生计生委科技基金项目(16KG155); 国家自然科学基金项目(81573733); 天津市慢性病防治科技重大专项项目(16ZXMJSY00060)

[作者简介] 舒刘芳, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的基础与临床, E-mail 为 1512281917@qq.com。通讯作者魏丽萍, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的基础与临床, E-mail 为 15022582976@163.com。

相关研究发现动脉粥样硬化斑块内 SMC 为多源性,但多数学者认为该类研究有各种方法学缺陷,其结果存在争议。中膜 VSMC 在炎症因子、趋化因子等刺激下,发生表型转换、增殖、迁移入病变内膜,仍是动脉粥样硬化斑块 SMC 的主要来源。

2 VSMC 表型分型

VSMC 为应对血管损伤可呈现出表型和功能的可塑性。VSMC 表型分为分化程度较高的收缩型(又称分化型)和分化程度较低的分泌型(又称未分化型)。正常人动脉血管壁的 VSMC 以收缩型为主,收缩型 VSMC 增殖和迁移能力差,主要功能是维持血管的弹性和收缩血管。在炎症因子、生长因子等的刺激下,收缩型 VSMC 可向分泌型 VSMC 转化。分泌型 VSMC 可迁移入内膜,异常增殖并分泌大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)及炎症因子(如 IL-1、TNF- α)等,而 ECM 的变化又会影响 VSMC 的增殖、黏附及迁移能力,进一步促进动脉粥样硬化斑块的形成和斑块内炎症-免疫反应。此外,分泌型 VSMC 还具有向巨噬细胞、成骨细胞、软骨样细胞等转换的能力,参与动脉粥样硬化斑块的钙化。

3 VSMC 表型转换促进动脉粥样硬化进程

3.1 VSMC 表型转换伴随功能改变

正常动脉内的 VSMC 表达一系列标志物,如平滑肌肌球蛋白重链(smooth muscle myosin heavy chain, SM-MHC)、SM22 α /tagln、平滑肌肌动蛋白(smooth muscle actin, SM-actin)、平滑肌素等。而在动脉粥样硬化斑块和体外培养的 VSMC 中这些标志物表达减少,其增殖、迁移及分泌能力增加^[4],这表明 VSMC 表型转换伴随着其功能的改变。已经有研究证实,正在进行表型转换的 VSMC 可以获得巨噬细胞的标记物和性质,这些 VSMC 衍生的巨噬细胞样细胞与经典的单核细胞、巨噬细胞及树突状细胞明显不同:在基因水平上,其收缩相关蛋白的 mRNA 表达及翻译水平下降^[5];在功能上,其吞噬能力降低,导致聚集的脂质、凋亡细胞及坏死碎屑进一步加剧动脉粥样硬化局部的炎症。因此,单从此点来看,VSMC 的表型转换在某种程度上具有促进动脉粥样硬化的作用,抑制 VSMC 的表型转换可能减轻晚期动脉粥样硬化斑块内的炎症进展。

3.2 VSMC 迁移

一般情况下,VSMC 位于血管中膜,维持着血管

张力和结构的完整性。当血管内皮细胞受损时,VSMC 发生表型转换,迁移到损伤血管内膜,并发生异常增殖及分泌大量 ECM,参与动脉粥样硬化早期阶段纤维帽的形成和发展,被认为是引起经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的关键因素之一。在动脉粥样硬化的晚期阶段,VSMC 凋亡占主要地位,是不稳定性斑块破裂,继而发生出血和形成血栓的主要原因之一,因此 VSMC 的迁移是动脉粥样硬化形成中一个重要的病理过程。活化的内皮细胞、血小板及炎性细胞产生的骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、胰岛素样生长因子 1(insulin growth factor-1, IGF-1)、转化生长因子 β (transform growth factor- β , TGF- β)等多种细胞因子与其受体结合,在 VSMC 迁移的过程中发挥重要作用。

临床研究发现,冠心病患者血浆 OPN 升高的水平与病变所累及的冠状动脉血管数呈正相关^[6],且血浆 OPN > 71.55 $\mu\text{g/L}$ 者较 < 71.55 $\mu\text{g/L}$ 者发生复合终点事件的概率有统计学差异,其机制可能是 OPN 结合 SMC 表面的整合素受体或 CD44 受体,激活黏斑激酶(focal adhesion kinase, FAK),催化 SMC 骨架蛋白分子上的酪氨酸磷酸化,引发平滑肌细胞变形、收缩,从而诱导其迁移与黏附,促进动脉粥样硬化的发生发展。

PDGF 是诱导 SMC 迁移和增殖最为突出的因子之一,包括 SMC 在内的所有细胞类型均可以分泌 PDGF 以响应特异性刺激^[7]。PDGF 与其受体结合后能激活细胞内的多条信号转导通路^[8],介导凋亡、自噬及炎症因子的表达,促进 VSMC 迁移。

此外,VSMC 的迁移也与细胞周期状态有关^[9],调控参与细胞周期过程中调节因子的表达可抑制 VSMC 迁移,这可能成为动脉粥样硬化和再狭窄的新治疗点。

3.3 VSMC 的增殖与凋亡对动脉粥样硬化的影响

正常动脉管壁的 VSMC 增殖能力甚弱,其增殖指数几乎无法测出。但是在动脉粥样硬化形成早期和血管损伤期间,可观察到大量细胞增殖,而 VSMC 是参与形成动脉粥样硬化细胞体系中增殖最活跃的细胞,其异常增殖导致的血管重构是经皮冠状动脉介入治疗术后再狭窄的重要原因之一。同时大量研究证实,动脉粥样硬化斑块内的凋亡细胞主要是 VSMC 和巨噬细胞。随着病变进展,斑块坏死核心和纤维帽中的凋亡细胞指数增加。不稳定性斑块常常伴随着斑块肩部 VSMC 减少和巨噬细胞增多,这表明巨噬细胞

可能通过死亡配体/受体的相互作用诱导 VSMC 凋亡^[10],而 VSMC 凋亡增加可能是引起斑块破裂及其并发症的关键事件^[11]。一般来说,由于 VSMC 本身具有强大的清除能力,凋亡的 VSMC 可在 48 h 内从血管壁被清除^[12]。但在高脂血症等条件下,这种吞噬作用延迟,血管壁内聚集的凋亡细胞释放大量 IL-1、IL-6、MCP-1 等细胞因子,进一步促进动脉粥样硬化炎症的进展,形成恶性循环;但部分研究者认为 VSMC 凋亡本身是否诱导炎症反应取决于其来源,如血管壁衍生的细胞在动脉粥样硬化发生凋亡时促进炎症,而骨髓来源的 SMC 样细胞因已经具有促炎症表型,所以它们的凋亡反而减轻炎症^[13]。VSMC 增殖与凋亡的失衡是导致动脉粥样硬化斑块形成及恶化的主要病理基础。

3.4 VSMC 的识别

近年来,有研究人员对不同程度的颈动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞和 VSMC 的分布进行了观察,发现斑块内的巨噬细胞比例随着斑块进展增多,而斑块表面的 VSMC 比例并未呈现明显变化^[14],这提示随着动脉粥样硬化的进展,斑块中 VSMC 的增殖和凋亡可能达到一定的平衡,然而这种结论与传统观点相悖。经过进一步探索,研究者们发现周细胞和活化的肌成纤维细胞也可表达多个 SMC 标记物,即在动脉粥样硬化病变内存在类似 VSMC 样细胞。此外,近期的遗传谱系追踪研究也证实:VSMC 的表型转换可导致其缺乏原有的特征性标志物,形成如巨噬细胞样细胞^[15]。在晚期动脉粥样硬化病变中,大于 80% 的 SMC 衍生的细胞不能用基于 SMC 标记的传统免疫染色方法检测到,这些未鉴定的 SMC 衍生细胞表现出其他细胞谱系的表型,包括巨噬细胞和间充质干细胞^[16]。这些研究结论意味着在过去的许多研究中,病灶中的 VSMC 和巨噬细胞很可能被错误识别,因为迄今为止,几乎所有的相关结论都源于使用单一标记物或标记物组的实验研究,其不能清楚地定义细胞的来源,也不能排除 VSMC 作为所述细胞的来源,因此,对斑块内 SMC 的正确识别显得尤为重要。

4 VSMC 表型转换的调节

VSMC 参与动脉粥样硬化的发生过程,无论是 VSMC 的迁移、增殖、凋亡还是识别过程都与其表型转换密不可分。VSMC 表型转换是细胞内外多种因素综合作用的结果,如细胞外基质蛋白、心肌素、生长因子、机械性作用力等,其中,细胞外基质蛋白和心肌素发挥了关键作用。

4.1 细胞外基质蛋白对 VSMC 表型转换的影响

VSMC 的主要功能之一是产生 ECM,而 ECM 是细胞间信号交流的桥梁,VSMC 可与其周围的 ECM 通过直接接触、旁分泌等方式相互作用。ECM 的成分和机械特性参与细胞的黏附、迁移、增殖和分化^[17-18]。众多证据显示,ECM 在调节 VSMC 的表型转换中扮演着重要角色。李明波等^[19]对生长在层粘连蛋白(laminin, LN)、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)和 Matrigel 胶的 SMC 上的 FAK 进行检测,发现 FAK 的表达在 FN 中最高,在 LN 中次之,在 Matrigel 胶中最低。其后,牛建平等^[20]将原代和传代培养的大鼠主动脉 VSMC 分别接种于 LN、FN、IV 型胶原蛋白包被的培养板上作用一段时间后,证实 LN 可延迟 VSMC 表型转化,而 FN 则促进 VSMC 表型转化与增殖,表明 ECM 的不同成分对 VSMC 表型和增殖的作用也不尽相同。Sazonova 等^[21]进一步发现,在 FN 修饰的基质上培养的 VSMC 表现出增加基质硬度的应答,而以 LN 为底物培养的细胞显示出减弱基质硬度的反应。与此同时,随着基质硬度的增加, FN 组 VSMC 肌酸轻链磷酸化和伸长率降低,而 LN 组 VSMC 肌酸轻链磷酸化增加,细胞形态无明显变化。这些研究结果表明,相同的细胞群体,因 ECM 呈现的配体不同,显示出不同的反应。在此背景下, Khoobchandani 等^[22]总结了多种研究成果,证实 EGCg-AuNP 能在极短的时间内,通过 LN 受体介导的内吞作用内化到 SMC 和内皮细胞中,其对 SMC 的迁移有选择性抑制作用,而在类似的条件下,对内皮细胞无明显影响,这提示 EGCg-AuNP 将可能作为药物涂层支架替代品,用于治疗各种心血管疾病。

4.2 心肌素与 VSMC 表型转换

心肌素是血清反应因子(serum response factor, SRF)最重要的共激活因子,在心肌细胞和 SMC 的发育和分化过程中发挥关键作用^[23-24]。Ackers-Johnson 等^[25]研究发现,心肌素缺乏可通过上调多种炎症途径、增加巨噬细胞募集或促进 VSMC 向巨噬细胞样表型转换,加重高胆固醇血症 ApoE^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化。Vengrenyuk 等^[5]将小鼠(或人)来源的 VSMC 与环糊精-胆固醇复合物孵育 72 h 后,发现 VSMC 上的巨噬细胞标记物上调, miR-143/145-心肌素轴下调;而增加心肌素的表达能有力地降低 VSMC 炎症因子、趋化因子和黏附因子的表达,减少新生内膜巨噬细胞的聚集。Park 等^[26]用 TGF- β 1 处理间充质干细胞,发现胶原凝胶晶格的收缩和平滑肌特异性基因,包括 α -平滑肌肌动蛋白、Calponin、平滑肌核-肌球蛋白重链、smoothelin-B、心

肌素和 h-caldesmon 等的表达水平显著增加,这表明肌素不仅在 SMC 表型转换中起作用,同时在其他细胞向 SMC 转化的过程中也发挥一定作用。新近研究还发现肌素、谷胱甘肽还原酶和亚硝基谷胱甘肽可以产生一个负反馈回路来调节 VSMC 表型转换的开关^[27],但是肌素相关转录因子 A 和 B 在 SMC 表型转化中的具体作用目前尚不明确。

5 总结和展望

综上所述,VSMC 可通过表型转换调节自身的增殖、迁移及凋亡,进而参与动脉粥样硬化的发生发展。尽管 VSMC 迁移和增殖不是早期动脉粥样硬化斑块形成的主要驱动因素,但其表型转换打破了增殖与凋亡之间的相对平衡,对动脉粥样硬化的进展影响复杂。此外,VSMC 表型转换受多种因素影响,转换后的 VSMC 可表现出多种类型细胞的功能,因此对动脉粥样硬化斑块内 SMC 的正确识别和分类将有助于进一步明确 VSMC 在动脉粥样硬化中扮演的角色。针对 VSMC 的表型转换,阻断其促炎变化将可能成为未来抗动脉粥样硬化的新思路。

[参考文献]

- [1] Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *NatMed*, 2002, 8(4): 403-409.
- [2] Yuan W, Liu W, Li J, et al. Effects of BMSCs interactions with adventitial fibroblasts in transdifferentiation and ultrastructure processes[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(7): 3 957-965.
- [3] Wendan Y, Changzhu J, Xuhong S, et al. BMSCs interactions with adventitial fibroblasts display smooth muscle cell lineage potential in differentiation and migration that contributes to neointimal formation[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 3196071.
- [4] Alexander MR, Owens GK. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease[J]. *Ann Rev Physiol*, 2012, 74: 13-40.
- [5] Vengrenyuk Y, Nishi H, Long X, et al. Cholesterol loading reprograms the microRNA-143/145-myocardin axis to convert aortic smooth muscle cells to a dysfunctional macrophage-like phenotype[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 535-546.
- [6] 李颖利, 张宝妮, 马为, 等. 血浆骨桥蛋白对冠心病诊断及预后的评价作用[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2016, 24(4): 181-185.
- [7] Raines EW, Ross R. Platelet-derived growth factor. I. High yield purification and evidence for multiple forms[J]. *J Biol Chem*, 1982, 257(9): 5 154-160.
- [8] Ouyang L, Zhang K, Chen J, et al. Roles of platelet-derived growth factor in vascular calcification[J]. *J Cell Physiol*, 2017, doi: 10.1002/jcp.25985.
- [9] Fukui R, Amakawa M, Hoshiga M, et al. Increased migration in late G1 phase in cultured smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 279: C 999-1 007.
- [10] Boyle JJ, Weissberg PL, Bennett MR. Human macrophage-induced vascular smooth muscle cell apoptosis requires NO enhancement of Fas/Fas-L interactions[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22: 1 624-630.
- [11] Bennett MR. Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodelling and atherosclerotic plaque rupture[J]. *Cardiovasc Res*, 1999, 41: 361-368.
- [12] Bennett M, Gibson D, Schwartz S, et al. Binding and phagocytosis of apoptotic rat vascular smooth muscle cells is mediated in part by exposure to phosphatidylserine[J]. *Circ Res*, 1995, 77: 1 136-142.
- [13] Yu H, Stoneman V, Clarke M, et al. Bone marrow-derived smooth muscle-like cells are infrequent in advanced primary atherosclerotic plaques but promote atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 1 291-299.
- [14] 李代欣. 动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞和平滑肌细胞分布的实验研究[D]. 扬州大学, 2013.
- [15] Albarran-Juarez J, Kaur H, Grimm M, et al. Lineage tracing of cells involved in atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 251: 445-453.
- [16] Feil S, Fehrenbacher B, Lukowski R, et al. Transdifferentiation of vascular smooth muscle cells to macrophage-like cells during atherogenesis[J]. *Circ Res*, 2014, 115: 662-667.
- [17] Chen CS, Tan J, Tien J. Mechanotransduction at cell-matrix and cell-cell contacts[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2004, 6: 275-302.
- [18] Goldmann WH. Role of vinculin in cellular mechanotransduction[J]. *Cell Biol Int*, 2016, 40(3): 241-256.
- [19] 李明波, 吴松, 黄良, 等. 细胞外基质成分及其构筑对平滑肌细胞黏着斑激酶表达的影响[J]. *解剖学杂志*, 2007, 30(5): 562-564.
- [20] 牛建平, 周志斌, 彭瑞强, 等. 细胞外基质成分对于平滑肌表型及增殖的影响[J]. *中华脑血管病杂志(电子版)*, 2013, 7(3): 1-5.
- [21] Sazonova OV, Isenberg BC, Herrmann J, et al. Extracellular matrix presentation modulates vascular smooth muscle cell mechanotransduction[J]. *Matrix Biol*, 2015, 41: 36-43.
- [22] Khoobchandani M, Katti K, Maxwell A, et al. Laminin receptor-avid nanotherapeutic EGCg-AuNPs as a potential alternative therapeutic approach to prevent restenosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 316.
- [23] 许丽辉, 何强. Myocardin 在大鼠血管平滑肌细胞表型转化中的作用机制[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 17: 2 483-486.
- [24] Xia XD, Zhou Z, Yu XH, et al. Myocardin: A novel player in atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2017, 257: 266-278.
- [25] Ackers-Johnson M, Talasila A, Sage AP, et al. Myocardin regulates vascular smooth muscle cell inflammatory activation and disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35: 817-828.
- [26] Park WS, Heo SC, Jeon ES, et al. Functional expression of smooth muscle-specific channels in TGF- β 1-treated human adipose-derived mesenchymal stem cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2013, 305(4): C 377-391.
- [27] Liao XH, Xiang Y, Li H, et al. VEGF-A stimulates STAT3 activity via nitrosylation of myocardin to regulate the expression of vascular smooth muscle cell differentiation markers[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2660.

(此文编辑 文玉珊)